

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



A emergência de *Candida auris* como agente patogénico multirresistente responsável por surtos de infeção nosocomial

Marta Alexandra Oliveira Samora

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



A emergência de *Candida auris* como agente patogénico multirresistente responsável por surtos de infeção nosocomial

Marta Alexandra Oliveira Samora

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentada à
Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Orientador: Professor Doutor Carlos São-José

2019

Resumo

A levedura *Candida albicans* continua a ser o agente de infecção fúngica mais isolado, no entanto têm surgido dados que indicam uma modificação da epidemiologia que dá conta de um peso crescente das espécies não-*albicans*. A espécie *Candida auris*, que tem ganhado protagonismo a nível mundial dada a sua implicação crescente em surtos graves de infecção nosocomial. É uma levedura com capacidade de colonizar a pele e persistir nos ambientes de cuidados de saúde, permitindo a sua fácil transmissão entre doentes.

C. auris foi isolada pela primeira vez de um doente em 2009, no Japão, mas rapidamente se disseminou pelos 5 continentes causando infeções invasivas graves tais como candidemia, pericardite, infeções do trato urinário e pneumonia. Estas complicações têm particular incidência nas unidades de cuidados intensivos, onde ganham maior destaque. Fatores inerentes a estas unidades tais como ventilação mecânica, intervenções cirúrgicas, nutrição parentérica total e tratamento prolongado com antibióticos são algumas das condições predisponentes à infecção por *C. auris*, afetando maioritariamente doentes imunodeprimidos.

A mortalidade associada a esta infecção fúngica é alta e o controle da infecção tem sido difícil uma vez que a colonização e a contaminação ambiental são extensas. A capacidade de *C. auris* de originar surtos hospitalares está relacionada com algumas características desta espécie que não são tão comumente observadas noutras leveduras tais como a difícil identificação, a elevada taxa de transmissão entre os doentes e as superfícies hospitalares, a longa persistência nos mesmos e a resistência a vários agentes antifúngicos e compostos desinfetantes.

As opções terapêuticas são limitadas devido à suscetibilidade diminuída dos isolados a pelo menos uma das classes de antifúngicos disponíveis, o que origina falha terapêutica e permite o avançar da infecção. O investimento na implementação de medidas preventivas é importante dado que muitas das infeções ocorrem por falhas a nível dos dispositivos médicos e dos profissionais de saúde.

As entidades governamentais e a sua colaboração com as instituições de saúde são fundamentais para garantir uma resposta adequada à infecção por *C. auris*, para conter a disseminação e prevenir infeções futuras.

Palavras-Chave: *Candida auris*, infeções nosocomiais, fungemia, disseminação, multirresistência.

Abstract

The yeast *Candida albicans* remains the most frequently isolated agente of fungal infections, but data have been indicating a change in epidemiology that points to na increasing importance of non-*albicans* species. The species *Candida auris* has been generating major concern worldwide as causative agent of serious nosocomial outbreaks. This yeast can colonize the skin and persist in the healthcare settings, allowing eficiente transmission between patients.

C. auris was isolated for the first time from a patient in 2009, in Japan, but quickly spread across the 5 continents causing serious invasive infections such as candidemia, pericarditis, urinary tract infections and pneumonia. These complications are particularly prevalent in intensive care units, where they are most prominent. Factors inherent to these units such as mechanical ventilation, surgical interventions, total parenteral nutrition and prolonged antibiotic treatment are some of the predisposing conditions for *C. auris* infection, affecting mostly immunosuppressed patients.

Mortality associated with this fungus is high and infection control has been difficult since colonization and environmental contamination are extensive. The ability of *C. auris* to cause hospital outbreaks is related to some characteristics of this species that are not commonly observed in other yeasts such as difficult identification, high transmission rate between patients and hospital surfaces, long persistence in those and resistance to various antifungal agents and disinfectant compounds.

Therapeutic options are limited due to the reduced susceptibility of isolates to at least one of the available antifungal classes leading to therapeutic failure and progression of infection. Investing in the implementation of preventive measures is important as many infections occur due to failures in medical devices and healthcare professionals.

Government health entities and their collaboration with healthcare institutions are key factors to ensure an adequate response to *C. auris* infection, to control it's spread and prevent future infections.

Key-words: *Candida auris*, nosocomial infections, fungemia, spread, multidrug resistance

Agradecimentos

Esta monografia marca o fim de uma longa etapa que, apenas foi possível concluir com sucesso com as pessoas que tive do meu lado e por isso não poderia deixar de agradecer:

Ao Professor Doutor Carlos São-José, por todo o apoio, dedicação e conselhos durante a elaboração desta monografia, pela total disponibilidade e pela sua visão crítica e oportuna que contribuiu para enriquecer o trabalho realizado.

À minha família, pais, avós, irmã, cunhado e sobrinha, por todo o apoio nos últimos 5 anos e pelo encorajamento nos momentos mais difíceis desta jornada.

Aos amigos, os de longa data que apesar da disponibilidade ser menor, tiveram sempre uma palavra de incentivo, e aqueles que conheci nesta que foi a minha segunda casa durante estes anos tendo sido vocês a minha segunda família, obrigada por todos os sorrisos em momentos de angústia e pela amizade sincera.

A todos os mencionados, um sincero obrigado .

Índice

1. Introdução	9
2. Objetivos	10
3. Materiais e Métodos	10
4. <i>Candida auris</i>	10
4.1 Características Microbiológicas e Bioquímicas.....	11
4.2 Epidemiologia	12
4.3 Fatores de Virulência	15
5. Infecção Nosocomial por <i>Candida auris</i>	17
5.1 Apresentação Clínica	18
5.2 Modo de Transmissão e Sobrevivência Hospitalar	19
5.3 Fatores de Risco.....	20
5.4 Métodos de Diagnóstico	22
6. Estratégias Terapêuticas.....	24
7. Mecanismos de Resistência	29
7.1 Equinocandinas.....	29
7.2 Polienos.....	30
7.3 Azóis	31
8. Medidas de Prevenção e Controlo.....	32
9. Conclusão e Perspetivas Futuras	33
10. Bibliografia	34

1.Introdução

As doenças fúngicas são um problema de saúde pública a nível global e, embora possam afetar qualquer pessoa, representam sobretudo uma séria ameaça para portadores de certas doenças debilitantes, nomeadamente as que envolvem supressão do sistema imunitário. As infeções de origem fúngica afetam cerca de mil milhões de pessoas, resultando em mais de 1,6 milhões de mortes anualmente. (1)

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento do número de infeções fúngicas associadas aos cuidados de saúde, podendo estar relacionado com o avanço nas terapias médicas e cirúrgicas e modalidades de tratamento mais agressivas, aumentando a população de doentes imunocomprometidos e consequentemente o risco de infeção fúngica invasiva. (2). Entende-se por infeções nosocomiais aquelas que são diagnosticadas durante um internamento que decorre por outro motivo de admissão, num hospital ou noutra instituição de saúde, e que não estava presente nem se encontrava em incubação à data de admissão, podendo estas ser locais ou sistémicas. (3)

As infeções fúngicas invasivas, que ocorrem em menor número que as bacterianas, são responsáveis por taxas de mortalidade e morbilidade elevadas, tendo sido observadas a nível dos cuidados hospitalares, em particular nas unidades de cuidados intensivos, onde ganham maior destaque e preocupação (4). Em particular, as infeções causadas por espécies do género *Candida* têm-se revelado um problema clínico em ascensão, sendo que existem pelo menos 15 espécies capazes de provocar doença nos humanos. A espécie mais comum associada a infeções invasivas é a *C. albicans*, ainda assim, várias espécies não *albicans* podem estar associadas a este tipo de infeções, como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ou *C. krusei*, cuja gravidade pode variar entre uma infeção minimamente sintomática e uma sépsis fulminante, com uma mortalidade associada superior a 70%. A mais recente espécie descrita como uma ameaça global é *C. auris*. (5)

Candida auris é um fungo emergente capaz de provocar infeções invasivas com elevadas taxas de mortalidade e que, apesar de ter sido identificado pela primeira vez em 2009, foram já vários os surtos que ocorreram em diversos países nos últimos anos, o que faz com que existam ainda muitas questões por esclarecer acerca desta levedura. A taxa geral de mortalidade intra-hospitalar da candidemia por *C. auris* varia de 30% a 60%, e as infeções ocorrem tipicamente várias semanas após a admissão. (6)

A presente revisão de literatura pretende expor uma visão global das características únicas deste fungo que tem levantado sérias preocupações nas autoridades de saúde, nomeadamente devido à sua rápida disseminação e difícil tratamento, em virtude da baixa suscetibilidade aos antifúngicos comumente utilizados na prática clínica.

2. Objetivos

Esta revisão tem como objetivo apresentar uma visão geral do conhecimento atual sobre a infecção por *C. auris*, focando em particular os recentes desenvolvimentos que promovem práticas baseadas na evidencia. Serão abordados aspetos como as características fenotípicas da espécie, virulência e patogenicidade, as opções terapêuticas e mecanismos de resistência às mesmas, métodos de diagnóstico e protocolos de prevenção e controle de infeções.

3. Materiais e Métodos

A pesquisa para a realização da revisão da literatura foi baseada integralmente em recursos eletrónicos, recorrendo à base de dados *Pubmed* e a websites de instituições de renome, nomeadamente o Centers for Disease Control and Prevention (CDC). No total foram obtidos 97 artigos e documentos que não publicações. Numa primeira fase, foi realizada uma pesquisa mais abrangente de forma a obter uma visão geral do tema e quais os pontos de interesse a abordar. A seleção das fontes bibliográficas utilizadas teve como critérios a relevância, fonte e ano de publicação. Não houve restrição de idiomas, no entanto os artigos que foram utilizados eram apenas de língua inglesa. Após leitura dos documentos foram excluídos os menos recentes e aqueles cuja fonte fosse menos fidedigna. Posteriormente foi efetuada uma pesquisa mais específica cujos termos de pesquisa utilizados estariam de acordo com o tópico a abordar. No final do trabalho, foram incluídas 78 referências bibliográficas.

4. *Candida auris*

A espécie *C. auris* tem vindo a emergir com características que a distinguem de outras do mesmo género, tais como o facto de provocar surtos de infeções nosocomiais com graves complicações e taxas de mortalidade elevadas, ser multirresistente às terapêuticas convencionais e ser de difícil deteção e diferenciação através dos métodos bioquímicos convencionais (7). Um caso de *C. auris* é definido sempre que a levedura é detetada num doente, incluindo tanto aqueles com infeção invasiva por *C. auris* como doentes colonizados sem doença invasiva (8).

C. auris foi isolada pela primeira vez em 2009 a partir do canal auditivo externo de um doente hospitalar no Japão e desde aí têm sido reportados vários casos em diversos países, especialmente associados a unidades de cuidados intensivos. (9) As razões para a emergência de *C. auris* como agente patogénico para o ser humano ainda não estão esclarecidas, mas foi sugerido recentemente que poderá esta associada às alterações climáticas. (10) Ainda assim, as taxas de incidência e prevalência não estão bem definidas

uma vez que os métodos de diagnóstico de rotina identificam este agente como sendo de outras espécies do género *Candida* e, por este motivo, *C. auris* pode estar associada à causa de mais infeções do que aquelas reportadas. Adicionalmente, a maioria dos isolados é resistente a pelo menos uma classe de medicamentos antifúngicos, sendo que alguns isolados são resistentes às três principais classes. (11) Assim, esta levedura tem sido considerada uma ameaça global à qual é necessário dar resposta de modo a impedir o surgimento de mais surtos e complicações associadas aos mesmos.

4.1 Características Microbiológicas e Bioquímicas

As infeções associadas a *C. auris* são frequentemente mal diagnosticadas uma vez que as suas características são muito semelhantes às do complexo de *Candida haemulonii* sendo necessário recorrer ao uso de métodos moleculares para a sua identificação. (11)

As características microscópicas observadas indicam que *C. auris* é uma levedura com uma forma ovoide ou alongada com dimensões na ordem dos $(2.0-3.0) \times (2.5-5.0) \mu\text{m}$, cujo crescimento pode ocorrer isoladamente, em pares ou em agregados, sendo este último um atributo que pode estar na origem da resistência à penetração de detergentes, radiações ultravioleta ou outros métodos de limpeza. (9)(12)(13)

Esta levedura pode crescer em diferentes meios de cultura, tais como em “Malt Extract Agar”, onde se formam colónias viscosas brancas a cinzentas, em “Sabouraud Dextrose Agar” (DAS), na forma de colónias lisas brancas ou cremes ou ainda em CHROMagar, no qual forma colónias cor rosa características deste fungo, sendo este último meio o mais utilizado. Em qualquer um dos meios a temperatura ótima de crescimento é de 37°C, ainda assim mantém viabilidade até aos 42°C, característica que permite a persistência no hospedeiro e auxilia a sua disseminação no meio ambiente. Esta característica, juntamente com o facto de ser capaz de se desenvolver em meios de elevada salinidade, permite distinguir *C. auris* de outras espécies de *Candida*. (9)(14)(15)

A ausência de formação de hifas ou pseudo-hifas em condições laboratoriais é também uma característica destes organismos, e que se julga levar a que o biofilme desenvolvido por esta levedura seja fino e pouco complexo. De facto, análises genómicas comparativas confirmaram que *C. auris* não possui dois genes, o da toxina peptídica candidalisina (ECE1) e o da proteína da parede celular da hifa (HWP1), ambos altamente expressos em *C. albicans*, e cuja transcrição é fortemente associada à formação de hifas. No entanto, quando as células são expostas a altas concentrações de sal adquirem uma porção mais alongada, com múltiplos núcleos e com células semelhantes a pseudo-hifas, caracterizadas por terem uma divisão celular incompleta. (12)(16)(17). Para além disso, foi reportado recentemente que a interação com o hospedeiro pode estimular a filamentação de *C. auris*. (18)

No que diz respeito aos testes bioquímicos, *C. auris* é negativa para o teste da produção do tubo germinativo e de clamidósporos e há evidência que os compostos de carbono assimilados por esta levedura são a glucose, a sacarose, a maltose, a D-trealose, a D-rafinose, a D-melezitose, o amido solúvel, o galactitol, o D-manitol, o sorbitol e o citrato sendo que algumas estirpes também mostraram ser positivas para a N-acetilglucosamina. O crescimento na presença de 0,1 e 0,01% de cicloheximida é negativo, assim como a atividade de urease, que é uma metaloenzima dependente de níquel que catalisa a hidrólise de ureia em NH₃ e CO₂, e que quando sintetizada por fungos atua como um fator de patogenicidade ou virulência. (9)

Apesar de algumas destas características serem únicas em relação a outras espécies do género *Candida* e poderem orientar o diagnóstico e serem importantes no que diz respeito à elaboração de novos métodos de identificação precoce e precisa, são necessários testes mais específicos para a sua identificação definitiva e para fazer a distinção entre outras espécies com as quais está relacionada. Os métodos de diagnóstico das infeções por *C. auris* serão brevemente discutidos na secção 5.4.

4.2 Epidemiologia

Através da recolha de dados e de várias investigações que foram feitas nos últimos anos foram demonstradas as múltiplas origens geográficas das infeções por *C. auris*. Esta foi isolada pela primeira vez em 2009, num hospital de Tokyo, no Japão, a partir do canal auditivo externo de uma mulher de 70 anos que já estava internada, cuja análise fenotípica, quimiotaxonomica e filogenética indicou uma espécie do género *Candida*, com uma estreita relação com outras espécies como *C. haemulonii* e *C. pseudohaemulonii*. (9). Ainda assim, uma revisão retrospectiva de várias estirpes de *Candida* revelou que foi em 1996 que foi detetado o isolamento da estirpe mais antiga de *C. auris* a partir do sangue de um doente pediátrico. Entre este período e a data do primeiro isolamento foram registados alguns casos pontuais, tendo sido descoberto mais tarde serem de *C. auris*, mas que foram mal diagnosticados aquando da infeção. Em 2011, durante análises microbiológicas retrospectivas de leveduras não identificadas, foram reportados na Coreia do Sul os primeiros três casos de infeção que originaram quadros de septicemia, dois deles em bebés de 1 ano e outro num adulto de 74 anos sendo que apenas um dos bebés sobreviveu, tendo sido reconhecido a esta espécie a capacidade de causar infeções invasivas e fatais. (19)

A partir desta época o número de casos reportados aumentou e desde aí organizações como “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) e “European Centers for Disease Prevention and Control” (ECDC) começaram a analisar as sequências completas de genomas de isolados de *C. auris* de países das regiões do leste da Ásia, sul da Ásia, sul da África e

América do Sul. Estes estudos demonstraram que os isolados eram bastante semelhantes entre si dentro de cada região, mas relativamente diferentes entre regiões, sugerindo que *C. auris* tenha emergido independentemente em múltiplas regiões aproximadamente ao mesmo tempo, não havendo por isso uma fonte única a partir da qual ocorreu a disseminação do fungo. (6) (11)

Em 2013 foi relatado um surto num hospital na Índia que resultou em 15 isolamentos, a partir de hemoculturas, inicialmente identificados como *C. haemulonii*. No entanto a sequenciação do genoma de treze destes revelou serem *C. auris*. a mortalidade associada a este surto foi de 53% (20) Nesta época estaria também a surgir o primeiro surto provocado por esta levedura na América, mais concretamente na Venezuela, onde de forma semelhante 18 doentes internados numa unidade de cuidados intensivo estariam infetados por *C. auris* mal identificada. Treze seriam doentes pediátricos e a taxa de mortalidade associada a este surto foi de 28%. (21) Nos diversos estados que fazem parte dos EUA, até abril de 2019 tinham sido contabilizados 654 casos confirmados, sendo que, para além das contagens de casos clínicos relatadas, foram detetados 1207 casos de colonização com *C. auris*, segundo os dados mais recentes. (22)

Com a propagação global da infeção por *C. auris*, o ECDC conduziu um inquérito nos países da União Europeia e do Espaço Económico Europeu sobre a notificação de casos de infeção pela espécie em causa o que resultou na identificação de 620 casos de *C. auris* reportados em seis países da UE / EEE para o período 2013-2017, dos quais 466 (75,2%) foram colonizações e 110 (17,7%) infeções na corrente sanguínea. (23)(8). Ainda que alguns destes números estejam relacionados com casos esporádicos isolados, há uma preocupação crescente no que diz respeito à propensão de *C. auris* em causar surtos nosocomiais. No caso da Europa, o primeiro surto ocorreu num centro cardiorácico em Londres, entre Abril de 2015, quando foi diagnosticado o primeiro caso numa UCI e Julho de 2016 tendo sido identificados 50 casos no total. O diagnostico foi realizado através de culturas microbiológicas de rotina de doentes que tivessem tido contacto prévio com pessoas infetadas ou com os locais que fossem positivos para a exposição ao fungo, uma vez que ficou demonstrada a sua capacidade de rápida colonização e transmissibilidade no contexto dos cuidados de saúde. Tal facto provavelmente levou a que o surto fosse prolongado e de uma gravidade considerável.(24) Foi também no Reino Unido, na UCI de neurociências dos Hospitais da Universidade de Oxford entre fevereiro de 2015 e agosto de 2017, que ocorreu um dos principais 4 surtos da Europa e que teve um total de 70 pacientes infetados. A análise genómica confirmou que todos os isolados formavam um único grupo genético relacionado com a estirpe sul-africana (25), tendo sido entre 2012 e 2013 que foram identificados os primeiros casos esporádicos no continente africano (26) .

Ainda assim foi no Hospital Universitário e Politécnico La Fe em Valência, Espanha que foram relatados os primeiros quatro casos de infeção sanguínea por *C. auris* na Europa continental, todos diagnosticados na unidade de cuidados intensivos cirúrgicos (SICU) entre abril e junho de 2016. Todos os doentes em causa teriam sido previamente expostos a antibióticos de amplo espectro, nutrição parenteral e vários procedimentos médicos invasivos, incluindo a colocação de cateter venoso central e cirurgia, no entanto dois destes doentes acabaram por falecer devido a falência multiorgânica. (25) No mesmo hospital foram analisados vários casos que foram surgindo após o primeiro impacto com esta levedura multirresistente e durante um período de 10 meses, de abril de 2016 a janeiro de 2017, foram identificados 140 doentes com culturas positivas para *C. auris*, incluindo 41 episódios de candidemia, dos quais 87,8% teriam sido admitidos na SICU. (27)

A prevalência global de *C. auris* é incerta uma vez que a sua semelhança fenotípica com outras espécies de *Candida* e a falha de métodos diagnósticos comercialmente disponíveis para a sua deteção precoce resulta em erros de identificação que subestimariam o número de casos associados a esta levedura, no entanto em 2018 já tinham sido reportados casos em 23 países abrangendo por isso 5 continentes (Tabela 1). (11) (12)

Em Portugal não se encontram descritos casos de infeções cujo agente etiológico tenha sido *Candida auris*, no entanto o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, em colaboração com o Instituto de Saúde Ambiental (ISAMB) e o Centro Hospitalar Lisboa Norte, tem em projeto um estudo exploratório para pesquisa de *Candida auris* no ambiente de uma unidade hospitalar de modo a verificar a sua presença no meio e a determinar os riscos de colonização e/ou infeção. (28)

Tabela 1 – Países onde foram relatados casos de *Candida auris* até 2018
[adaptado de (12)]

País	Ano do 1º relato	Ano do 1º caso de infeção	
Japão	2009	1997	Múltiplos Casos
Coreia do Sul	2011	1996	Múltiplos Casos
Índia	2013	2009	Múltiplos Casos
Quênia	2014	2010	Múltiplos Casos
África do Sul	2014	2012	Múltiplos Casos
Kuwait	2015	2014	Caso único
Alemanha	2016	2015	Múltiplos Casos
Noruega	2016	NR	Caso único
Paquistão	2016	2008	Múltiplos Casos

Reino Unido	2016	2013	Múltiplos Casos
Estados Unidos	2016	2013	Múltiplos Casos
Venezuela	2016	2012	Múltiplos Casos
Canadá	2017	2017	Múltiplos Casos
Colômbia	2017	2013	Múltiplos Casos
Israel	2017	2014	Múltiplos Casos
Sultanato de Omã	2017	2016	Múltiplos Casos
Panamá	2017	2016	Múltiplos Casos
Espanha	2017	2016	Múltiplos Casos
Áustria	2018	2018	Caso único
Bélgica	2018	NR	Caso único
França	2018	2017	Múltiplos Casos
Malásia	2018	NR	Caso único
Emirados Árabes Unidos	2018	2017	Caso único

4.3 Fatores de Virulência

Nos últimos anos tem crescido a evidencia de que *C. auris* consegue colonizar tanto o ambiente hospitalar e material médico como vários locais do corpo dos doentes levando à alta transmissibilidade e aos surtos prolongados que lhe são característicos. (29)

Sabe-se que a capacidade de germinação (filamentação) e de adesão, a produção de proteinase e fosfolipase, e a formação de biofilmes são os principais fatores de virulência conhecidos de *C. albicans* e da sua patogenicidade. No entanto, estudos recentes indicam que estes fatores são menos evidentes em *C. auris*, pelo menos *in vitro*, com variação significativa na produção das referidas enzimas dependendo da estirpe. (30)

Nos isolamentos da levedura detetaram-se dois padrões de comportamento que influenciavam a patogenicidade do fungo: os isolados onde havia formação de agregados e os isolados onde não havia formação de agregados. Borman et al. 2016 realizou um estudo onde gerou várias suspensões de isolados de *C. auris* em solução salina tamponada com fosfato (PBS) e onde observou que enquanto a maioria dos isolados formava suspensões homogêneas após mistura no vortex, em 4 dos isolados formaram-se agregados de grande dimensão juntamente com as células individuais da levedura do sobrenadante, sendo estes

resistentes tanto a métodos físicos como a métodos químicos (tratamento com detergentes). Nestas estirpes a capacidade de formar agregados foi mantida *in vivo*, no entanto, foram as estirpes não agregadas que mostraram ser mais virulentas e com maior patogenicidade. (31)

C. auris não tem capacidade de germinação quando incubado em soro fetal de bovino (FBS), de formação de hifas ou de produção de clamidósporos aquando do crescimento no agar de farinha de milho. Ainda assim são vários os caracteres de virulência de *C. auris* que em vários aspetos se assemelham aos de *C. albicans*, tais como a secreção de enzimas degradativas, a invasão tecidual, a capacidade de aquisição de ferro e a presença de proteínas quinase e sistemas de transporte. Exibe também capacidade de formar biofilmes e aderir ao material dos cateteres ainda que, neste aspeto, em menor extensão que *C. albicans*. (30) (29). O facto de apresentar tolerância a ambientes salinos e termotolerância, com temperatura ótima de crescimento de 37°C e viabilidade e virulência demonstrada até aos 42°C, pode promover a sua persistência em ambiente hospitalar. (9) (17)

A secreção enzimática, mais concretamente de fosfolipase e de proteinases, é um dos mecanismos que mais contribui para a virulência deste fungo sendo que, com base na análise do genoma de *C. auris*, são as hidrolases o grupo de enzimas com maior prevalência (42%) seguido das transferases (25%) e das oxidoredutases (19%). (32) A produção específica de enzimas líticas ocorre de forma dependente de estirpe, ainda assim, dados mostram que 37,5 % das estirpes testadas num estudo *in vitro* apresentaram atividade de fosfolipase e que 64% fora positivas para a proteinase, enzimas estas que ajudam na adesão às células. (30) Segundo um estudo realizado por Chatterjee et al. 2015, onde foi usado o genoma de *C. albicans* como modelo genético de modo a identificar a presença de genes ortólogos nos isolamentos de *C. auris*, as aspartil proteinases, as lípases, as fosfatases, as manosil transferases, as fosfolipases, as integrinas e as adesinas foram as famílias de genes identificadas e que estão envolvidas na virulência do fungo. Foram encontrados quatro ortólogos de aspartil proteases secretadas (SAP), dois dos quais com maior expressão após invasão epidérmica profunda e com um papel considerável na formação do biofilme; estas ajudam ainda o fungo a digerir as proteínas do hospedeiro e os peptídeos resultantes são conduzidos para dentro da célula através de transportadores específicos, sendo por isso capaz de causar dano no tecido hospedeiro e, segundo Wang et al. 2018, *C. auris* exibe alta atividade de SAP a 25 °C, 37 °C, 40 °C e até a 42 °C. No estudo de Chatterjee et al. 2015 ficou ainda evidenciado que as lipases, com oito genes ortólogos, e as manosil transferases, através do seu papel no reconhecimento imunológico e na adesão à célula hospedeira, são também importantes para o processo de invasão do hospedeiro. No caso das integrinas e das adesinas apenas foram identificadas duas proteínas com papel na adesão, sendo uma delas estruturalmente similar à subunidade alfa da integrina leucocitária humana e a outra uma proteína semelhante à subunidade da aglutinina alfa. Esta última parece ser

induzida por exposição ao fluconazol o que sugere que *C. auris* tem vários mecanismos para a adesão à célula hospedeira. Ainda assim foram detetadas muitas proteínas que não estão caracterizadas e que devem ser investigadas uma vez que é possível que estas estejam envolvidas em características específicas da espécie que promovem sua agressividade como patógeno (32) (17)

Uma outra característica enzimática detetada em algumas das estirpes é a atividade da hemolisina que é uma enzima capaz de conferir alta capacidade de aquisição de ferro que consequentemente favorece o crescimento, nomeadamente das hifas e aptidão de invasão tecidual, o que pode facilitar a ocorrência de uma infeção generalizada. (30) (33)

C. auris consegue aderir a superfícies poliméricas, formar biofilmes e resistir a agentes antifúngicos, nomeadamente a caspofungina que normalmente é altamente eficaz contra biofilmes de *Candida*, o que permite a sua sobrevivência em ambientes hospitalares, aumentando sua capacidade de causar surtos (34). Um biofilme consiste numa comunidade de microrganismos que estão fortemente associados a uma dada superfície, material inerte ou tecido vivo, produzindo polímeros extracelulares que fornecem uma matriz estrutural. A formação do biofilme é uma característica de patogenicidade das espécies de *Candida* que permite a proteção contra fatores externos, como as defesas do sistema imunológico do hospedeiro e os antifúngicos. As características do biofilme dependem da habilidade de cada espécie em produzir substâncias poliméricas extracelulares (EPS) e exibir crescimento dimórfico, mas também no substrato do biofilme, disponibilidade de fontes de carbono e outros fatores. O estudo de biofilmes de algumas estirpes de *C. auris* indicou que estes eram compostos principalmente de células de levedura aderidas ao material do cateter e que a espessura do mesmo era consideravelmente menor quando comparada com *C. albicans*, onde a arquitetura do biofilme é heterogénea com células de levedura e hifas contidas na matriz extracelular. (35) (30)

5. Infeção Nosocomial por *Candida auris*

Desde o primeiro isolamento de *C. auris* em 2009, têm sido descritas várias infeções causadas por este patógeno sobretudo na forma de sépsis ou candidemias altamente invasivas, com elevadas taxas de mortalidade e de baixa suscetibilidade aos antifúngicos, estando por isso associadas a falha terapêutica. Associado a esta levedura esta também um aumento significativo do tempo de internamento hospitalar e dos custos de saúde, a alta transmissibilidade entre doentes e a persistência de semanas no ambiente hospitalar sendo estes motivos para se considerar este fungo e os surtos provenientes do mesmo como uma preocupação a nível de saúde pública. São comumente reportadas taxas de mortalidade de

30 a 40% associadas à infecção da corrente sanguínea por *Candida*, mesmo em pacientes que receberam tratamento antifúngico, no entanto para *C. auris* a informação existente é limitada devido ao número mais reduzido dos casos publicados ou da descrição de surtos. (12) (23)

5.1 Apresentação Clínica

As infecções por *C. auris* estão mais associadas a doentes hospitalizados, o que representa a sua emergência como um importante patógeno nosocomial com significativo potencial de transmissão dentro das unidades de cuidados de saúde. À semelhança do que acontece com outras espécies de *Candida*, *C. auris* pode causar infecções invasivas graves ou colonizar pacientes sem infecção. A infecção geralmente ocorre poucas semanas após a admissão hospitalar, no entanto podem diferir na sua apresentação inicial uma vez que depende do local mais afetado numa primeira fase. *C. auris* pode causar diferentes tipos de infecções tendo já sido relatados casos de infecções do trato urinário, otites, vulvovaginites, infecções da ferida operatória, miocardites, meningites e infecções ósseas, sendo as mais comuns as do foro sanguíneo e associadas a dispositivos médicos invasivos. (6)(36) (37). A maioria dos isolados foi detetado no sangue, embora também existam relatos de *C. auris* noutras fontes clínicas como o líquido biliar, o ouvido, a biópsia jejunal, a secreção ocular, o líquido peritoneal, o líquido pleural, o trato respiratório, a urina, o fluido vaginal e nas feridas. Até ao momento, não foi estabelecido se a presença nesses locais representa evidência de infecção ou colonização. Os doentes podem também ser colonizados de forma assintomática por *C. auris* na pele, narinas e outros locais do corpo e nestes casos significa que existe um risco elevado de desenvolver uma infecção invasiva e a pessoa em causa é uma fonte de transmissão para os outros (21). Nestes casos de colonização existem dados que demonstram a deteção da levedura durante 3 meses ou mais após a sua deteção inicial ainda que tenha sido realizado o tratamento antifúngico no período intermédio.

A candidemia geralmente ocorre após um episódio clínico, como a colocação de uma nova linha arterial ou de um tubo invasivo, que oferece a oportunidade ao organismo de passar da pele para a corrente sanguínea. (12)

Numa infecção invasiva os sintomas mais comuns são a febre e os calafrios que não melhoram com o tratamento com antibióticos, ainda assim, dado que as pessoas que desenvolvem a infecção geralmente têm outra doença subjacente, pode ser difícil detetar *C. auris* apenas com sintomas. (6)

A apresentação clínica caracteriza-se assim como inespecífica sendo muitas vezes difícil de diferenciar entre outros tipos de infecções sistémicas incluindo infecções causada por outras espécies de *Candida*.

5.2 Modo de Transmissão e Sobrevivência Hospitalar

C. auris parece distinguir-se das outras leveduras pelo facto de se estabelecer facilmente em ambientes de prestação de cuidados de saúde. Vários estudos têm sido realizados no âmbito de analisar o modo como *C. auris* consegue sobreviver em meio hospitalar e determinar o provável modo de transmissão desta espécie e mecanismos associados. A aglomeração de doentes no tempo e no espaço, a colonização da pele dos mesmos e o facto desta levedura ser altamente clonal são fatores que apoiam fortemente a hipótese de transmissão de pessoa para pessoa que ocorre no contexto de cuidados de saúde e que pode acontecer rapidamente, apenas algumas horas ou dias após a exposição. Embora o género *Candida* seja frequentemente considerada um organismo comensal que coloniza mais comumente o trato gastrointestinal, *C. auris* comporta-se mais como *C. parapsilosis* na sua propensão a colonizar a pele, o que proporciona uma oportunidade de disseminação de pessoa para pessoa. (12) (38)

Dentro dos fatores que contribuem para a transmissão é de referir a colonização prolongada de doentes clínicos e de triagem e a contaminação ambiental. A colonização persistente das pessoas afetadas e a falta de um regime de descolonização resultam num grande reservatório de pessoas que transportam o organismo, sendo que lapsos nas medidas de controlo de infeção irão amplificar todo o processo. (39)

Existem dois estudos realizados nos EUA que descrevem os resultados de seleção de pessoas que estiveram em contacto com doentes positivos para *C. auris* no âmbito de cuidados de saúde. Num conjunto de casos ocorridos nos EUA entre junho de 2016 e maio de 2017 foram analisadas 390 pessoas, relacionadas com os 77 infetados, através de amostras recolhidas a partir das axilas e das virilhas uma vez que foi demonstrado serem os locais de maior rendimento para detetar colonização. A escolha teve por base incluir doentes da mesma enfermaria devido ao risco de contaminação ambiental e transmissão por parte dos prestadores de cuidados de saúde uma vez que estes desempenham um papel fundamental na transmissão de *C. auris* entre doentes, particularmente com uma higiene das mãos inadequada e através do movimento e uso de equipamentos contaminados. A partir destes resultados foram identificadas 45 pessoas positivas para a colonização (12%). (40) Uma taxa similar de transmissão foi identificada num surto na cidade de Nova York uma vez que das culturas de triagem realizadas para 572 pessoas (1.136 culturas no total), os resultados foram positivos para 61 pessoas (11%). Culturas relativas ao meio envolvente foram positivas nas amostras de 15 instalações num total de 20. (39) Deste modo, a propensão desta levedura para colonizar a pele fornece um meio de transmissão entre

peças, aumentando assim a preocupação com os surtos associados aos cuidados de saúde. (41)(12)

Embora o mecanismo preciso da transmissão nosocomial de *C. auris* permaneça desconhecido, acredita-se que seja um processo multifatorial que envolve a colonização do ambiente e dos equipamentos de saúde, sendo por isso crucial entender os mecanismos de sobrevivência desse patógeno no ambiente hospitalar. *C. auris* pode-se disseminar através do contacto com superfícies contaminadas. A análise de várias amostras demonstrou a presença de *C. auris* em vários locais tais como salas de espera e corredores fora dos quartos dos doentes, camas, cadeiras e materiais tais como ventiladores ou termómetros podendo a contaminação persistir no ambiente em redor do leito do doente durante várias semanas. (42) Recentemente foi possível analisar os doentes, profissionais de saúde e meio ambiente envolvente em quatro hospitais na Colômbia onde teriam sido relatados surtos de *C. auris*; os resultados mostram contaminação de *C. auris* em vários objetos e instalações entre os quais se encontravam superfícies como bandejas e equipamento médico que não teria estado em contacto com o doente mas sim com os profissionais de saúde. (43)

Através da realização de um ensaio para detetar atividade da esterase ficou demonstrado que as células de *C. auris* eram viáveis nas superfícies duas semanas após a última deteção por cultura, indicando que as células estariam num estado viável, mas não cultivável, e estando por isso metabolicamente ativas por pelo menos quatro semanas. Este estudo foi realizado em superfícies plásticas secas e não porosas, semelhantes às mesmas encontradas em ambientes de cuidados de saúde. (15)

A capacidade de *C. auris* permanecer nas superfícies parece ser maior quando comparada com *C. albicans*, mas menor que a de *C. glabrata* ou *C. parapsilosis*, o que cria um desafio para erradicar a levedura em causa dos hospitais considerando a capacidade de desta de colonizar a pele. (15) (44)

5.3 Fatores de Risco

Os fatores de risco predisponentes para a infeção por *C. auris* são similares a outras espécies de *Candida*, pois são patógenos oportunistas. Os principais fatores de risco associados a *C. auris* são a hospitalização prolongada, cirurgia abdominal, internamento em unidade de terapia intensiva, doença de base grave e imunossupressão, como malignidade hematológica, tumores sólidos, transplante de medula óssea e HIV, doença renal crónica, a presença de cateteres venosos centrais e/ou urinários centrais, cirurgia recente, terapia com corticosteroides, nutrição parentérica, neutropenia, exposição prévia a antibióticos de amplo espectro e terapia antifúngica nos últimos 90 dias. (45)

Ruiz-Gaitan et al. 2017 publicou um estudo que tinha como objetivo descrever as características clínicas e microbiológicas dos quatro primeiros casos de fungemia por *C. auris* observados no continente europeu e através deste é possível analisar os fatores de risco que estavam presentes em cada um dos casos. Todos os doentes foram diagnosticados na SICU, sendo que se tratava de doentes adultos, com idades compreendidas entre os 26 e os 66 anos, cujo tempo de internamento no serviço antes de ser detetada a infeção variou entre 18 e 59 dias. Analisando em pormenor o estado clínico de cada doente no momento da cultura positiva é possível perceber que todos eles haviam sido previamente expostos a antibióticos de amplo espectro, nutrição parentérica e múltiplos procedimentos invasivos, incluindo CVC, que foi removido após a deteção da infeção, cateter urinário e cirurgia, no entanto, nenhum apresentava neutropenia. Para além dos fatores que eram comuns a todos, dois destes doentes tinham também como fator de risco o facto de já terem recebido anteriormente terapêutica antifúngica, nomeadamente fluconazol. O score de *Candida* foi ≥ 4 em todos os doentes no momento do diagnóstico, sendo esta uma ferramenta utilizada para diferenciar entre pacientes internados que apresentam sépsis grave adquirida no hospital ou choque séptico e que beneficiariam do tratamento antifúngico precoce (score > 3) daqueles para quem a candidíase invasiva é altamente improvável (score ≤ 3). Em todos os episódios o crescimento de levedura foi detetado em frascos de cultura de sangue após 7 a 32 h de incubação e na cultura quantitativa dos CVC também foi observado um crescimento significativo de levedura. (25) (46)

Num outro estudo mais abrangente foi possível analisar um subgrupo previamente relatado de 27 UCIs indianas onde foram considerados os dados clínicos de casos de candidemia devidos a *C. auris* e outras espécies de *Candida* de modo a comparar e determinar os fatores de risco significativos associados à infeção por *C. auris*. Foram diagnosticados 1400 pacientes com candidemia adquirida na UCI, dos quais 5,3% (74 doentes) foram devidos a *C. auris*; destes 52 seriam adultos e das 22 crianças, 6 eram recém-nascidos. Os resultados obtidos mostram que o isolamento desta espécie foi significativamente maior nos hospitais do setor público em comparação com os hospitais do setor privado (46, 62,2% versus 28, 37,8%) e que as co-morbilidades presentes incluíam as doenças pulmonares (n=30, 40,5%), renais (n=16, 21,6%), cardiovasculares (n=15, 20,3%), gastrointestinais (n=7, 9,5%) e hepáticas (n=5, 6,8%), tendo sido também referenciada neutropenia em dois (2,7%), malignidade em seis (8,1%) e outras condições imunodeficientes em quatro (5,4%) pacientes. No que diz respeito a procedimentos invasivos, um número considerável de pacientes recebeu intervenção médica na UCI, incluindo cateterismo urinário (n=56, 75,7%), cateterismo venoso central (n=53, 71,6%), cateter de drenagem pós-operatório (n=25, 33,8%) e nutrição parentérica (n=15, 20,3%). Quando analisados os dados clínicos que resultaram do estudo em causa, nomeadamente da comparação entre infeção por *C.*

auris e não-*auris*, ficou demonstrada a associação de *C. auris* com cinco fatores de risco: admissão em UCIs de hospitais do norte da Índia, admissão em hospitais públicos, doença respiratória como co-morbilidade, cirurgia vascular e exposição antifúngica, mesmo em doentes com um baixo score APACHE II na admissão. (47)

Um levantamento dos primeiros casos de *C. auris* nos Estados Unidos também mostrou que a infecção se desenvolveu em associação com condições subjacentes graves, como malignidade e uso de corticosteroides, que resultaram em imunossupressão. Ainda assim, mais estudos podem ser necessários para compreender melhor quais os fatores de risco associados à infecção por *C. auris* e o seu impacto na transmissão da mesma. (48)

5.4 Métodos de Diagnóstico

Para o tratamento adequado de qualquer doença infecciosa, é fundamental a identificação rápida e correta do microorganismo causador e o mesmo é verdade para *C. auris*. Para que os serviços de saúde possam combater estas infecções implementando medidas de controlo e prevenção é de extrema importância que os laboratórios tenham métodos para uma identificação precisa desta levedura.

A aparência e a cor das colónias de *C. auris* são características que podem ajudar na identificação desta espécie, mas não pode ser usado como o único método de identificação já que esta levedura necessita de métodos de diagnóstico mais específicos para ser distinguida de outras espécies mais comuns de *Candida* (6)

A maioria dos laboratórios utiliza sistemas e equipamentos de identificação de leveduras disponíveis comercialmente baseados no metabolismo das leveduras, tais como o API-20C AUX (Biomérieux), o VITEK-2 YST (Biomérieux), o BD-Phoenix (BD) ou o MicroScan (Beckman Coulter). As técnicas moleculares e bancos de dados de sequências de genomas de fungos cada vez mais completos têm facilitado a identificação confiável de espécies filogeneticamente relacionadas e fenotipicamente idênticas. Ainda assim, estes sistemas frequentemente identificam *C. auris* como sendo outras espécies de *Candida* intimamente relacionadas, devido à escassa informação acerca desta espécie nas bases de dados, originando falsos diagnósticos. (49) (14) A espécie que é erroneamente identificada depende do método utilizado, estando os sistemas VITEK-2 YST mais associados à identificação desta levedura como *C. haemulonii*, sendo este o resultado mais comum que pode ser confirmado por um estudo que revelou que aproximadamente 90% dos isolados classificados por VITEK 2 como *C. haemulonii* eram na verdade *C. auris*. No mesmo estudo foram também testados outros sistemas de identificação com uma amostra de isolados de *C. auris* que foram identificados como *Rhodotorula glutinis* por API 20C AUX, como *C. catenulata* e *C. haemulonii* por BD Phoenix e como *C. famata*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* por

MicroScane. (50) Assim, uma das grandes barreiras para o diagnóstico oportuno e implementação do tratamento mais adequado para tipo de infecções é o fracasso dos métodos bioquímicos convencionais e comercialmente disponíveis e, por esta razão, clínicos e laboratórios devem estar mais alerta e considerar, sempre que possível, testes mais avançados tais como os que são baseados em espectrometria de massa ou na sequenciação de DNA do domínio D1/D2. (23)(49)(51)

A técnica de espectrometria de massa com fonte de ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS) foi recentemente considerada como uma tecnologia conveniente, rápida e de alto rendimento na identificação de microrganismos tendo alguns estudos demonstrado que esta técnica pode identificar *C. auris* de forma correta e rápida, diferenciando-a de outras espécies relacionadas. Esta metodologia compara os espectros adquiridos para uma amostra com uma base de dados de espectros introduzidos para isolados de etiologia conhecida. Usando uma biblioteca de uso exclusivo para pesquisa (RUO – research use only) ou um banco de dados atualizado, as duas plataformas MALDI-TOF MS disponíveis, o mais comumente usado Bruker Biotyper™ (Bruker) e o menos usado Vitek MS (Biomérieux), podem detetar *C. auris* com uma maior sensibilidade e especificidade e num curto período temporal. Sem o banco de dados referido, os sistemas não fornecerão identificação de espécie ou no caso do sistema VITEK MS poderá identificar incorretamente *C. auris* como *C. haemulonii* ou *C. lusitaniae*. (14) (52)

Em 2018, Bao et al. 2018 desenvolveu um novo banco de dados MALDI-TOF denominado de "CMdb", para permitir a identificação rápida e precisa de *C. auris*. Este novo banco de dados CMdb contém 22 espectros de estirpes *C. auris* e ainda de outras espécies relacionadas, incluindo *C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii* e *C. krusei*. Os resultados do estudo mostraram que 100% das amostras utilizadas foram identificadas corretamente quando utilizado o referido banco de dados, tendo grande parte destas a confirmação da sua identificação através da sequenciação de DNA ribossomal. Em comparação, apenas 39% dos isolados de *C. auris* foram corretamente identificados pela base de dados da RUO, no entanto, o uso de EPdbs, um banco de dados que combina a RUO e o CMdb, resulta na identificação precisa dos isolados de *C. auris*. (53)

Embora o próprio ensaio Bruker Biotyper MALDI-TOF MS seja rápido, os protocolos recomendados pelo fabricante exigem etapas pré-analíticas extensas, incluindo a cultura do isolado a ser testado por 24-72h e uma etapa complexa de preparação de proteína envolvendo várias extrações com solventes e centrifugações múltiplas. Existem várias abordagens no sentido de diminuir e simplificar a fase de extração ou de aplicar diretamente as células de levedura na placa MALDI-TOF MS. Estas, no entanto, resultam em menores taxas de sucesso de identificação. (54) Mizusawa et al. 2017 observaram que, utilizando um método de extração direta no sistema Vitek MS, todos os isolados de *C. auris* foram corretamente identificados,

enquanto que com o uso do método de extração direta no sistema Bruker MS apenas 50% dos isolados de *C. auris* foram positivos. (50)

Atualmente, o MALDI-TOF MS é uma das ferramentas de identificação mais eficientes para a detecção precisa de *C. auris*, diminuindo o tempo de resposta para <3 h em comparação com técnicas convencionais e baseadas em DNA, no entanto este método requer equipamento de alto custo, que pode não estar disponível em muitos laboratórios de microbiologia, especialmente em países em desenvolvimento.(55)

O desenvolvimento de técnicas que resultem numa identificação mais fácil e rápida de infecções por *C. auris* tem sido um dos desafios apresentados. Recentemente, vários métodos de PCR que envolvem a amplificação de regiões ITS2 têm sido apresentados. No entanto, existem também resultados favoráveis no que diz respeito a uma abordagem de PCR dirigida para genes específicos da espécie, tal como o que codifica para a protéase glicosilfosfatidilinositol (GPI). (27)

Nos casos hospitalares com aumento da incidência de infecção invasiva por espécies de *Candida* não-*albicans* e nas situações de doentes transferidos de instalações que tenham relatado surtos de *C. auris*, seria importante implementar medidas que garantissem o encaminhamento de isolados invasivos para um laboratório de micologia de referência uma vez que os testes de referência não estivessem disponíveis ao nível do laboratório clínico. O Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças revelou que mais de um quarto dos países da Área Europeia / Espaço Económico Europeu não possuíam as aptidões laboratoriais necessárias para identificar *C. auris*. Devido à falta de capacidade do laboratório para detecção e vigilância de rotina, o reconhecimento da introdução de *C. auris* numa unidade de saúde pode ser adiado até que a disseminação já tenha ocorrido e já esteja sob a forma de surto. (8)

Este reconhecimento de espécie é especialmente importante quando a infecção ocorre num local invasivo e estéril uma vez que muitas espécies de *Candida* têm padrões característicos de resistência a antifúngicos e o conhecimento da espécie pode ajudar os médicos a fazerem uma escolha mais apropriada para o tratamento antifúngico. (23)

6.Estratégias Terapêuticas

As infecções invasivas de *C. auris* representam um desafio terapêutico e não existe consenso para o tratamento ideal. Com um aumento dos casos de infecções por *C. auris*, torna-se essencial ter estratégias terapêuticas contra as mesmas. Uma vez que não existem opções terapêuticas concretas já documentadas para este tipo de infecções, é aconselhável que a seleção do tratamento seja seguida caso a caso.

As recomendações do CDC para iniciação do tratamento antifúngico incluem apenas doentes com evidencia de infecção, excluindo aqueles que estejam apenas colonizados, à semelhança com o que acontece com outras espécies de *Candida*. (56)

Quando existe uma suspeita de infecção por *C. auris*, o doente deve ser imediatamente colocado num quarto em isolamento até que a identificação definitiva esteja disponível e devem ser realizadas algumas medidas de notificação e de controle de infecção tais como a comunicação com o departamento responsável e o CDC, o reforço da higienização das mãos e do material em contacto com o doente. (57)

Uma das principais preocupações na escolha do antifúngico adequado é a reduzida suscetibilidade deste fungo a azóis (nomeadamente ao fluconazol e ao voriconazol), polienos (anfotericina B) e, num menor número de casos, a equinocandinas (caspofungina, micafungina e anidulafungina), sendo estas as três classes de antifúngicos habitualmente disponíveis para este tipo de infecção e, por isso, existe um número relativamente limitado de fármacos. (58) (23) Por se tratar de uma levedura tipicamente multirresistente devem ser realizados testes de suscetibilidade antes de iniciar a terapêutica, estando entre os mais utilizados os métodos de microdiluição do “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” e do “Comité Européen de Teste de Suscetibilidade Antimicrobiana (EUCAST)”, o método de difusão por gradiente do E-test e o sistema de suscetibilidade antifúngica VITEK 2 (59)

O CLSI e o EUCAST ainda não estabeleceram valores de referência (“breakpoints”) para a definição de resistências em *C. auris*. Assim, o CDC propôs alguns valores provisórios, baseados naqueles estabelecidos para as espécies de *Candida* mais aparentadas. Por exemplo, é considerada resistência quando os valores de concentração inibitória mínima (MIC, µg/ml) são ≥ 32 para o fluconazol, ≥ 2 para a anfotericina B, ≥ 4 para a anidulafungina e para a micafungina e ≥ 2 para a caspofungina. (60) Com base nestes dados e na evidencia clínica, enquanto os resultados dos testes de sensibilidade estão pendentes, a primeira linha de tratamento são as equinocandinas, não estando recomendada a terapia antifúngica combinada numa fase inicial da infecção. (21) (57)

Dentro do grupo terapêutico das equinocandinas existem algumas opções de fármacos tais como a caspofungina, a micofungina e a anidulafungina. Estes consistem em lipopeptídeos que têm como alvo a glucano sintase, uma enzima chave envolvida na biossíntese da parede celular da levedura. (61) As doses recomendadas para adultos e crianças com idade superior a 2 meses estão representados na tabela 2. (56)

Tabela 2 – Dosagens recomendadas de equinocandinas como terapia inicial para o tratamento de infecções por *C. auris* [adaptado de (56)]

Fármaco (equinocandina)	Dosagem em adultos	Dosagem pediátrica
Anidulafungina (ANF)	Dose de carga de 200 mg IV, depois 100 mg IV diariamente	Não aprovado para uso em crianças
Caspofungina (CAS)	Dose de carga de 70 mg IV, depois 50 mg IV diariamente	Dose de carga 70 mg/m ² /dia IV, depois 50 mg/m ² /dia IV
Micafungina (MCF)	100 mg IV diariamente	2mg/kg/dia IV com opção de aumentar para 4mg/kg/dia IV se >40 kg

As taxas de resistência às equinocandinas são geralmente baixas, no entanto existem alguns relatos de elevados níveis de MICs e dados que indicam que os fármacos desta família não são fungicidas contra *C.auris*. (62) No caso particular da caspofungina, esta mostrou ser inativa contra os biofilmes de *C. auris*, apesar de normalmente ser altamente eficaz contra biofilmes de outras espécies de *Candida*. (34) Assim, alguns médicos preferem usar mais do que 1 antifúngico para tratar esses organismos invasivos mais resistentes, mas uma vez que não existe evidência na utilização combinada de antifúngicos, cada caso tem de ser analisado isoladamente. (63) (37)

Em casos de falta de responsividade às equinocandinas, uma das hipóteses sugeridas é a prescrição de anfotericina B lipossomal, como terapia única ou combinada com uma equinocandina, sendo este um fármaco pertencente à classe dos polienos e fungicida contra *C. auris*, no entanto os isolados de *C. auris* têm apresentado uma suscetibilidade variável ao referido antifúngico. (56)

Os polienos são a classe mais antiga de medicamentos antifúngicos, onde estão incluídos a anfotericina B e a nistatina, e que atuam por ligação ao ergosterol, um esteroide específico dos fungos presente na membrana plasmática, extraíndo-o, o que leva à formação de canais dependentes da concentração que matam as células, permitindo a saída de iões e outros componentes celulares. (64) Uma das desvantagens associadas a este fármaco é a toxicidade renal, no entanto, quando utilizado em formulações lipídicas de anfotericina B, a toxicidade do mesmo é menor do que a formulação original. O custo económico mais elevado desta apresentação mais segura impede que o seu uso mais amplo.(65)

A mudança para uma anfotericina B lipossomal (5 mg/kg por dia) pode ser considerada caso o doente não responda ao tratamento de 1ª linha com uma equinocandina ou tenha fungemia persistente por um período superior a 5 dias. No caso de recém nascidos e crianças com idade inferior a 2 meses o tratamento inicial mais adequado recai no desoxicolato de anfotericina B na dosagem de 1 mg/kg por dia. Se ainda assim não responder à terapêutica

inicial referida, 5 mg/kg/dia de anfotericina B lipossomal pode ser uma alternativa a considerar. (56)

O tratamento antifúngico mais amplamente disponível para candidíases é o fluconazol, no entanto, quando falamos de *C. auris*, os isolados apresentam frequentemente resistência a vários fármacos pertencentes à classe dos azóis, nomeadamente ao fluconazol que está associado a altas concentrações mínimas inibitórias (MICs). Na Índia foi realizado um estudo onde foram reportados valores de 90% de resistência perante este fármaco numa amostra de 350 isolamentos, comprovando a ineficácia associada a este fármaco (66)

Os compostos azólicos tais como o fluconazol, o voriconazol ou o posaconazol têm como alvo a enzima citocromo P450 esterol 14 α -desmetilase, que converte o lanosterol em ergosterol e é codificado por ERG11 em leveduras. Nestas, a inibição enzimática irá provocar uma diminuição de ergosterol na membrana plasmática e ter uma ação fungistática. (65) Alguns estudos têm avaliado *in vitro* o comportamento de *C. auris* com terapias combinadas e a análise de dados obtidos revela a possibilidade de ocorrer uma reação sinérgica entre um azol e uma equinocandina, mais concretamente com a micofungina e com o voriconazole, mesmo em isolados resistentes aos fármacos separadamente. (67)

A emergência global *C. auris* tem suscitado interesse por parte dos investigadores, nomeadamente Lockhart et al. 2017 que conseguiu obter 54 isolados de 41 doentes com infeção por *C. auris* do Paquistão, Índia, África do Sul e Venezuela durante 2012–2015, dos quais foi possível recolher informações acerca dos antifúngicos utilizados e das consequências mais imediatas (Tabela 3). Num âmbito geral, 15 doentes não receberam nenhum tratamento antifúngico dos quais 7 (47%) morreram. Vinte e seis utentes receberam tratamento antifúngico e 6 receberam 2 ou mais antifúngicos. Quinze doentes receberam anfotericina B, dos quais 4 mostraram resistência ao mesmo, o que resultou em 2 mortes. Oito pacientes foram tratados com caspofungina, incluindo 1 cujo isolado era resistente; 4 destes doentes morreram, incluindo aquele cujo isolado se mostrou resistente à equinocandina. O teste de suscetibilidade antifúngica foi realizado nos 54 isolados e mostrou que 93% dos mesmos eram resistentes ao fluconazol, 35% à anfotericina B e 7% às equinocandinas; 41% eram resistentes a duas classes antifúngicas e 4% eram resistentes a três classes, o que veio comprovar a multirresistência deste microorganismo. (11) (23)

Tabela 3 – Características clínica de doentes com infeções causadas por *C. auris* entre 2012 e 2015 [adaptado de (11)]

Tratamento antifúngico após diagnóstico	Total (n=41)	Índia (n=15)	Paquistão (n=18)	Venezuela (n=5)	África do Sul (n=3)
Nenhum	15	5	7	1	2
Anfotericina B	15	2	10	2	1
Fluconazole	9	2	2	2	0
Voriconazole	2	1	0	1	0
Caspofungina	8	6	0	2	0
Mortes Hospitalares	24	7	13	3	1

A prática de medidas que permitam diminuir ou eliminar a fonte de infeção, tais como a remoção de cateteres invasivos são também elas importantes para o sucesso terapêutico. (68). Analisando relatos mais recentes é possível observar quais as medidas terapêuticas adotadas e resultado dos primeiros 79 episódios de candidemia por *C. auris* no Hospital Universitário e Politécnico La Fe em Espanha. Todos os doentes foram inicialmente tratados com uma equinocandina, mas devido ao mau prognóstico em 45% dos casos, um segundo agente antifúngico, anfotericina B lipossomal (35,4%) ou isavuconazol (10,1%) teve que ser adicionado (Tabela 4). Para além do tratamento farmacológico foram realizadas algumas medidas não farmacológicas como a drenagem de exsudados e remoção de CVC ou outros dispositivos, o mais precocemente possível, uma vez que estes são a fonte presumida da infeção. Estimou-se também que a presença de CVC, a nutrição parentérica e a ventilação mecânica aumentam as chances de colonização ou candidemia por *C. auris* num fator de 13.48, 3.49 e 2.43, respetivamente. A recolha de hemoculturas diárias após o início da terapia é também uma medida importante a implementar de modo a determinar a data da esterilização. (62)

Tabela 4 – Medidas terapêuticas e resultados dos primeiros 79 casos de *C. auris* no Hospital Universitário e Politécnico de La Fe [adaptado de (62)]

Medidas terapêuticas	N (%)
Remoção do cvc	76 (96.2)
Tratamento antifungico	79 (100)
➤ Equinocandina	79 (100)
➤ Equinocandina + I-amb	28 (35.4)
➤ Isavuconazol	8 (10.1)
Resultados	
Morte	42 (58.2)
Outras complicações	7 (8.8)

Como este microrganismo pode rapidamente desenvolver resistências, mesmo durante o tratamento, os doentes que iniciam esta terapêutica devem ser cuidadosamente monitorizados analisando dados que indiquem melhoria clínica, culturas de acompanhamento e testes de suscetibilidade que devem ser realizados repetidamente.(69)

Se um isolado for considerado resistente a todos os agentes mencionados anteriormente, o laboratório de referência deverá testar a suscetibilidade do isolado à flucitosina, nistatina e terbinafina. Atualmente, as estirpes do Reino Unido permanecem suscetíveis aos agentes tópicos nistatina e terbinafina e é possível que, para o tratamento de estirpes multirresistentes, possa ser considerado um regime que incorpore terbinafina oral. (69)

A duração do tratamento antifúngico é semelhante ao recomendado para infeções causadas por outras espécies de *Candida*. O tratamento para candidemia deve ser mantido durante 14 dias após a última deteção do microrganismo na corrente sanguínea e resolução dos sintomas atribuíveis à candidemia. O tempo para a eliminação da infeção após o início do tratamento não é claro; entretanto, a fungemia persistente por até 3 semanas tem sido observada por alguns autores. (70)

Após o tratamento da infeção, é fundamental a adoção e o seguimento de medidas de controlo uma vez que os doentes permanecem colonizados pela levedura.

7.Mecanismos de Resistência

A resistência medicamentosa é uma questão que tem vindo a tomar proporções cada vez maiores nos últimos anos e apesar de ser mais comum quando falamos de antibacterianos, com a introdução de novas classes de agentes antifúngicos, particularmente os azóis que têm sido amplamente usados contra infeções por *Candida*, os relatos de resistência a antifúngicos têm sido cada vez mais frequentes. A resistência associada ao microorganismo pode ser do tipo intrínseca ou primária, quando é uma característica de todos ou quase todos os representantes da espécie, ou resistência do tipo adquirida. A resistência intrínseca é preditiva de falha clínica. (58)

Os mecanismos de resistência de *C. auris* aos fármacos disponíveis ainda não estão clarificados, no entanto, alguns estudos demonstram que esses mecanismos se assemelham aos de outras espécies resistentes de *Candida*.

7.1 Equinocandinas

O uso de equinocandinas tem aumentado na última década, o que potenciou o surgimento de resistência aos fármacos pertencentes a esta classe. Uma taxa alarmante de

37% de resistência à Caspofungina foi detetada e relatada com base na análise de 102 isolados de *C. auris* de 4 hospitais na Índia. No presente estudo, foram realizados teste de suscetibilidade antifúngica de acordo com as diretrizes do CLSI e quatro isolados indianos foram reconhecidos como resistentes a todas as equinocandinas testadas (ANF, CAS, MCF). Estes resultados são particularmente preocupantes dada a recomendação para o uso de equinocandinas como um tratamento empírico para a infeção por *C. auris* antes da disponibilidade de resultados específicos de testes de suscetibilidade. (59) Kordalewska et al. 2019 demonstrou ainda a correlação entre uma resposta menos eficaz observada no modelo animal com infeção invasiva e a presença de mutações nos genes FKS, uma vez que os animais mutantes não responderam ao tratamento com CAS, com alta carga renal comparável à dos controlos administrados com o veículo. (59)

O mecanismo de resistência às equinocandinas nas espécies de *Candida* envolve a aquisição de mutações nos genes FKS, que codificam para a enzima 1,3-beta-glucano-sintase, o alvo dos fármacos pertencentes à classe referida, ocorrendo nomeadamente substituições de aminoácidos em duas regiões estreitas de FKS1 para todas as espécies de *Candida* e de Fks2 em *C. glabrata* (65)

Na Índia foram utilizados primers FKS específicos para *C. auris* em 38 isolados da levedura e ficou demonstrado que quatro isolados apresentaram uma substituição de aminoácido serina para fenilalanina (S639F), a qual é equivalente à posição FKS1 HSI S645 em *C. albicans* e foi associada a elevadas MICs de equinocandina.(66) Num outro isolado resistente a substituição observada foi de uma serina para tirosina (S652Y) no mesmo gene. (71). As substituições de aminoácidos nestas zonas denominadas “hot spot” produzem concentrações inibitórias mínimas elevadas e diminuem a sensibilidade da glucano sintase ao fármaco em 50 a 3000 vezes. (72)

A informação mais detalhada e precisa sobre a resistência dos isolados a esta classe de fármacos pode ser obtida executando testes de suscetibilidade onde a mesma é refletida por MIC ≥ 2 mg/L, e / ou por sequenciamento da região FKS1 e deteção da mutação característica, através dos quais se chegou à conclusão de que a micofungina é a equinocandina mais potente. (59)

7.2 Polienos

No caso da anfotericina B não está completamente definido e estudado qual o mecanismo de resistência que os isolados desta espécie desenvolvem. Com base naquilo que acontece noutras espécies de *Candida*, pensa-se que a resistência à anfotericina B é essencialmente do tipo intrínseca e o seu mecanismo envolve uma redução da quantidade de ergosterol presente na membrana celular. Este é formado a partir de um precursor, o

lanosterol, por meio de vários esteróis intermediários. Esta biossíntese envolve várias etapas enzimáticas codificadas pelos genes ERG. Mutações combinadas em ERG11 e em ERG3 ou ERG5 e mutações únicas em ERG6 ou em ERG2 foram associadas à diminuição de ergosterol e à resistência à anfotericina B no género *Candida*. (58) (57)

O tratamento com um antifúngico da classe dos azóis também reduz as concentrações celulares de esterol pelo que uma exposição prévia à classe antifúngica referida, um fator de risco para a contração de infeções por *C. auris*, pode conferir resistência aos polienos. (65)

Os dados relatados nos testes de suscetibilidade demonstraram que alguns sistemas comerciais tais como o Vitek AST-YS07 podem detetar erroneamente MICs elevadas da anfotericina B. Portanto, recomenda-se uma abordagem cautelosa aquando da realização destes testes por parte dos laboratórios. (14)

7.3 Azóis

A resistência à classe dos azóis entre diversas espécies do género *Candida* envolve vários mecanismos bem definidos, incluindo a regulação positiva dos transportadores de fármacos, a expressão aumentada ou alteração do alvo do fármaco e alterações celulares induzidas por resposta ao stress. (Figura 1) (73)

Um dos mecanismos que confere elevada resistência de *C. auris* a esta classe terapêutica dá-se através de mutações no gene ERG11, um mecanismo que já era associado ao desenvolvimento de resistência ao fluconazol em *C. albicans* mas que foi também detetado numa amostra de 54 isolados de *C. auris*. A resistência mediada por mutações pontuais no gene da lanosterol 14 α -desmetilase (ERG11) foi evidenciada através substituições de aminoácidos que foram diferentes consoante a região geográficas: F126 T na África do Sul, Y132F na Venezuela e Y132F ou K143F na Índia e Paquistão. Essa associação entre cada mutação e a origem geográfica dos isolados pode sugerir que a resistência antifúngica ao fluconazol possa ser adquirida e não intrínseca. (11)

Supõe-se também que a resistência de *C. auris* a azóis ocorra devido à regulação positiva de bombas de efluxo, tal como acontece com *C. haemulonii* e *C. glabrata*, no entanto foi relatado que *C. auris* demonstra uma atividade da bomba de efluxo do tipo ABC superior quando comparada com outras espécies. A atividade deste tipo de bombas de efluxo foi evidenciada pelo transporte de Rodamina 6G, um substrato das bombas de efluxo do tipo ABC responsável pela resistência a vários azóis em *C. glabrata*. As estirpes de *C. haemulonii* e *C. auris* exibiram uma atividade de efluxo de rodamina 6G elevada quando a glicose estava presente no meio, tendo sido superior em *C. auris* quando comparada com *C. glabrata* e *C. haemulonii*. (74)

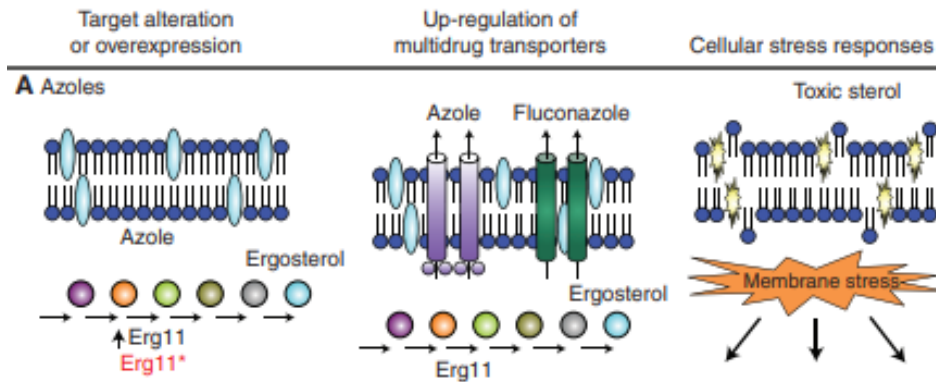


Figura 1 – Mecanismos de resistência a azóis [adaptado de (73)]

8. Medidas de Prevenção e Controlo

Portanto, para além das opções de tratamento, as medidas de prevenção e controlo de infeções têm grande importância para limitar a propagação de *C. auris*.

Embora o diagnóstico de um caso de *C. auris* seja suficiente para iniciar uma investigação, quando mais do que um doente é identificado como estando infetado num estabelecimento de saúde, são recomendadas as seguintes ações adicionais: a realização de avaliações de controlo de infeção, uma pesquisa de modo a detetar possíveis casos adicionais, e considerar uma amostragem ambiental e dos profissionais de saúde que possam estar contaminados e a promover a transmissão da infeção. (57)

Numa primeira fase recomenda-se a instauração de medidas padrão no que diz respeito ao contato direto do doente infetado, transferindo o mesmo para um quarto individual e reforçando a adesão à higiene adequada das mãos. Quando possível, o equipamento usado para o doente infetado ou colonizado não deve ser compartilhado com outras pessoas na enfermaria, a menos que seja possível garantir a sua descontaminação. (69)

No que diz respeito às normas de higienização, *C. auris* é resistente a uma ampla gama de compostos desinfetantes tais como o ácido acético, o álcool etílico e a produtos de amónio quaternário, sendo estes usados rotineiramente nas instalações de saúde. Nestes casos deve haver uma reavaliação do método de desinfecção a implementar. Estudos *in vitro* revelaram que compostos à base de hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogénio têm atividade contra *C. auris* quando aplicados nas condições de concentração e tempo de contato recomendados pelos fabricantes. (57) (75) (62)

Os dados sobre métodos de desinfecção como a radiação UV germicida, são limitados e podem exigir tempos de ciclo semelhantes aos usados para desativar os esporos bacterianos, quando usados para *C. auris*. Até que mais informações estejam disponíveis para *C. auris*, o

CDC recomenda o uso de desinfetantes de nível hospitalar registrados na Agência de Proteção Ambiental (EPA), eficazes contra esporos de *Clostridioides difficile* (76) (75)

Informações básicas sobre o doente, incluindo características demográficas e histórico clínico, devem ser obtidas e analisadas assim como o registo detalhado de viagens, especialmente se tenha recebido assistência médica em países onde casos de *C. auris* foram relatados. Deve ainda ser realizado um estudo de rastreabilidade de pessoas que tenham estado em contacto com o doente para identificar possíveis casos de colonização assintomática e analisar os mesmos. (57)

Um doente colonizado por *C. auris* deve ser seguido regularmente uma vez que a colonização é difícil de erradicar e tende a persistir por meses. Uma vez que seja detetada, deve ser sujeita a reavaliação periódica entre 1 a 3 meses, dependendo da sintomatologia apresentada, o que pode ajudar a notificar o período necessário onde devem ser aplicadas as medidas de controle de infeção. Além disso, testes semanais com amostras de zaragatoa das axilas e da virilha, juntamente com locais onde foram detetadas culturas positivas anteriores, devem ser realizados e analisados para avaliação do estado clínico do utente. (69) (57)

9. Conclusão e Perspetivas Futuras

O surgimento de *C. auris* como patógeno nosocomial resistente a múltiplos fármacos e em vários países em simultâneo tornou-se uma preocupação global de saúde pública. A necessidade da realização de estudos futuros nesta área é evidenciada pela necessidade de resposta a algumas perguntas sobre este tema que ainda não estão esclarecidas.

Desde a descoberta desta levedura que foram simultaneamente surgindo surtos em diferentes países, no entanto a origem da espécie e o porquê de apenas ter emergido nos últimos anos nunca foram revelados. Por ser uma espécie recente, os dados epidemiológicos não são exatos e as taxas de prevalência na comunidade são desconhecidas.

O desenvolvimento de políticas e estratégias para a identificação precoce de fontes e reservatórios de *C. auris* em hospitais em tempo real seria uma medida importante a desenvolver de modo a prevenir a transmissão hospitalar e a controlar a disseminação da infeção. Para isto acontecer é necessário a colaboração entre laboratórios, equipas médicas e comissões hospitalares de controlo de infeção. O desenvolvimento de tecnologias simples e de baixo custo de modo a permitir uma rápida identificação de doentes infetados e colonizados seria uma área de grande interesse para desenvolvimento e investigação uma vez que os métodos atuais mais exatos são mais demorados e apenas são realizados em laboratórios específicos. (63)

As opções terapêuticas disponíveis são limitadas e o facto deste fungo apresentar múltiplas resistências aos fármacos administrados leva a que o desenvolvimento de novos

antifúngicos seja fundamental para controlar os surtos que afetam sobretudo doentes imunodeprimidos e com co-morbilidades. Neste sentido, uma empresa de biotecnologia tem divulgado resultados iniciais de um estudo de fase 3 de um novo medicamento para o tratamento de infecções invasivas por *Candida auris*, o ibrexafungerp, que se têm revelado promissores. Em estudo está também um novo inibidor da síntese de 1,3-D-glucano SCY-078 que possui atividade *in vitro* e *in vivo* contra várias espécies de *Candida*, no entanto, com *C. auris* essa atividade apenas foi demonstrada *in vitro*, contra todas as estirpes das diferentes regiões geográficas. No caso de pessoas que estejam colonizadas, existem ainda dúvidas no que diz respeito ao tempo que esta pode permanecer colonizada e nas medidas que podem ser eficazes na redução a carga fúngica. (63)(57)(77)(78)

C. auris é uma levedura com características semelhantes a outras espécies do mesmo género, no entanto é fundamental que no futuro sejam analisados todos os mecanismos de virulência, de transmissão e de resistência nesta levedura para que possam ser desenvolvidos medidas e estratégias de controlo e prevenção. Sendo este um microorganismo patogénico recente, é necessário trabalhar com os parceiros de saúde pública para se saber mais sobre *C. auris*, manter os profissionais de saúde informados sobre como prevenir e agir em caso de surto e incentivar os investigadores para que o doente possa receber os melhores cuidados de saúde.

10. Bibliografia

1. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. *J Fungi*. 2017;3(4):1–29.
2. Suleyman G, Alangaden GJ. Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology, Infection Control, and Prevention. *Infect Dis Clin North Am*. 2016;30(4):1023–52.
3. Duce G, Fabry J, Nicolle L, Silva L de L da, de Oliveira A, Soares S. Prevenção de infecções adquiridas no hospital - Um guia prático. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. 2002.
4. Garbee DD, Pierce SS, Manning J. Opportunistic Fungal Infections in Critical Care Units. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 2017;29(1):67–79.
5. Pappas, Peter G.; Lionakis, Michail S.; Arendrup, Maiken; Ostrosky-Zeichner, Luis; Kullberg B. Invasive Candidiasis. *Nat Rev | Dis Prim*. 2018;4(1):1–20.
6. CDC. General Information about *C. auris*. Available from: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/candida-auris-qanda.html>. 2019.
7. Bidaud AL, Chowdhary A, Dannaoui E. *Candida auris*: An emerging drug resistant yeast

- A mini-review. *J Mycol Med.* 2018;28(3):568–73.
8. Kohlenberg A, Struelens MJ, Monnet DL, Plachouras D. *Candida auris*: epidemiological situation, laboratory capacity and preparedness in European Union and European Economic Area countries , 2013 to 2017. *Euro Surveill.* 2018;23(13):1–5.
 9. Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol Immunol.* 2009;53(1):41–4.
 10. Casadevall A, Kontoyiannis DP, Robert V. On the Emergence of *Candida auris*: Climate Change, Azoles, Swamps, and Birds. *Br J Aesthet.* 2019;10(4):1–7.
 11. Lockhart SR, Etienne KA, Vallabhaneni S, Farooqi J, Chowdhary A, Govender NP, et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. *Clin Infect Dis.* 2017;64(2):134–40.
 12. Forsberg K, Woodworth K, Walters M, Berkow EL, Jackson B, Chiller T, et al. *Candida auris*: The recent emergence of a multidrug-resistant fungal pathogen. *Med Mycol.* 2018;57(1):1–12.
 13. Desoubeaux G et al. *Candida auris* in contemporary mycology labs: A few practical tricks to identify it reliably according to one recent French experience. *J Mycol Med.* 2018;28(2):2–5.
 14. Kathuria S, Singh PK, Sharma C, Prakash A, Masih A, Kumar A, et al. Multidrug-Resistant *Candida auris* Misidentified as *Candida haemulonii*: Characterization by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry and DNA Sequencing and Its Antifungal Susceptibility Profile Variability by Vitek 2, CL. *J Clin Microbiol.* 2015;53(6):1823–30.
 15. Welsh RM, Bentz ML, Shams A, Houston H, Lyons A, Rose LJ, et al. Survival, Persistence, and Isolation of the Emerging Multidrug-Resistant Pathogenic Yeast *Candida auris* on a Plastic Health Care Surface. *J Clin Microbiol.* 2017;55(10):2996–3005.
 16. Muñoz JF, Gade L, Chow NA, Loparev VN, Juieng P, Berkow EL, et al. Genomic insights into multidrug-resistance, mating and virulence in *Candida auris* and related emerging species. *Nat Commun.* 2018;9(1):1–13.
 17. Wang X, Bing J, Zheng Q, Zhang F, Liu J, Yue H, et al. The first isolate of *Candida auris* in China: Clinical and biological aspects article. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):0–8.
 18. Yue H, Bing J, Zheng Q, Zhang Y, Hu T, Du H, et al. Filamentation in *Candida auris*,

- an emerging fungal pathogen of humans: passage through the mammalian body induces a heritable phenotypic switch. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):1–13.
19. Lee WG, Shin JH, Uh Y, Kang MG, Kim SH, Park KH, et al. First Three Reported Cases of Nosocomial Fungemia Caused by *Candida auris*. *J Clin Microbiol.* 2011;49(9):3139–42.
 20. Sarma, S.; Kumar, N.; Sharma, S.; Govil, D.; Ali, T.; Mehta, Y.; Rattan A. Candidemia caused by amphotericin B and Fluconazole resistant *Candida auris*. *Indian J Med Microbiol.* 2013;31(1):90–2.
 21. Pan American Health Organization. Epidemiological Alert: *Candida auris* outbreaks in health care services. Washington; 2016.
 22. CDC. Tracking *Candida auris*. Available from: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/tracking-c-auris.html>. 2019.
 23. European Centre for Disease Prevention and Control. *Candida auris* in healthcare settings, Europe. *Candida auris* in healthcare settings – Europe. Stockholm; 2016.
 24. Schelenz S, Hagen F, Rhodes JL, Abdolrasouli A, Chowdhary A, Hall A, et al. First hospital outbreak of the globally emerging *Candida auris* in a European hospital. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2016;5(1):1–7.
 25. Ruiz Gaitán AC, Moret A, López Hontangas JL, Molina JM, Aleixandre López AI, Cabezas AH, et al. Nosocomial fungemia by *Candida auris*: First four reported cases in continental Europe. *Rev Iberoam Micol.* 2017;34(1):23–7.
 26. Govender NP, Magobo RE, Mpembe R, Mhlanga M, Matlapeng P, Corcoran C, et al. *Candida auris* in South Africa, 2012–2016. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(11):2036–40.
 27. Ruiz-Gaitán A, Moret AM, Tásias-Pitarch M, Aleixandre-López AI, Martínez-Morel H, Calabuig E, et al. An outbreak due to *Candida auris* with prolonged colonisation and candidaemia in a tertiary care European hospital. *Mycoses.* 2018;61(7):498–505.
 28. Institut Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge. Instituto Ricardo Jorge participa em estudo exploratório para pesquisa ambiental de *Candida auris*. Available from: <http://www.insa.min-saude.pt/instituto-ricardo-jorge-participa-em-estudo-exploratorio-para-pesquisa-ambiental-de-candida-auris/>. 2019.
 29. Rossato L, Colombo AL. *Candida auris*: What have we learned about its mechanisms of pathogenicity? *Front Microbiol.* 2018;9(DEC):1–6.
 30. Larkin E, Hager C, Chandra J, Mukherjee PK. The Emerging Pathogen *Candida auris*: Growth Phenotype, Virulence Factors, Activity of Antifungals, and Effect of SCY-078, a Novel Glucan Synthesis Inhibitor, on Growth Morphology and Biofilm Formation.

- Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(5):1–13.
31. Borman AM, Szekely A, Johnson EM. Comparative Pathogenicity of United Kingdom Isolates of the Emerging. *mSphere*. 2016;1(4):4–6.
 32. Chatterjee S, Alampalli SV, Nageshan RK, Chettiar ST, Joshi S, Tatu US. Draft genome of a commonly misdiagnosed multidrug resistant pathogen *Candida auris*. *BMC Genomics*. 2015;16(1):1–16.
 33. Kumar D, Banerjee T, Pratap CB, Tilak R. Itraconazole-resistant *Candida auris* with phospholipase, proteinase and hemolysin activity from a case of vulvovaginitis. *J Infect Dev Ctries*. 2015;9(4):435–7.
 34. Sherry L, Ramage G, Kean R, Borman A, Johnson EM, Richardson MD, et al. Biofilm-forming capability of highly virulent, multidrug-resistant *Candida auris*. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(2):328–31.
 35. Cavaleiro M, Teixeira MC. *Candida* Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Front Med*. 2018;5(28):1–15.
 36. Giarratano A, Giammanco A, Chowdhary A, Cortegiani A, Fasciana T, Misseri G. Epidemiology, clinical characteristics, resistance, and treatment of infections by *Candida auris*. *J Intensive Care*. 2018;6(1):1–13.
 37. Sarma S, Upadhyay S. Current perspective on emergence, diagnosis and drug resistance in *Candida auris*. *Infect Drug Resist*. 2017;10:155–65.
 38. Armstrong PA, Rivera SM, Escandon P, Caceres DH, Chow N, Stuckey MJ, et al. Hospital-Associated Multicenter Outbreak of Emerging Fungus *Candida auris*, Colombia, 2016. *Emerg Infect Dis*. 2019;25(7):1339–46.
 39. Adams E, Quinn M, Tsay S, Poirot E, Chaturvedi S, Southwick K, et al. *Candida auris* in healthcare facilities, New York, USA, 2013–2017. *Emerg Infect Dis*. 2018;24(10):1816–24.
 40. Tsay S, Welsh RM, Adams EH, Chow NA, Gade L, Berkow EL, et al. Ongoing Transmission of *Candida auris* in Health Care Facilities — United States, June 2016–May 2017. Vol. 66, *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2017.
 41. Snyder GM., Wright SB. The epidemiology and prevention of *Candida auris*. *Curr Infect Dis Rep*. 2019;21(19):45–56.
 42. Biswal M, Rudramurthy SM, Jain N, Shamanth AS, Sharma D, Jain K, et al. Controlling a possible outbreak of *Candida auris* infection: lessons learnt from multiple interventions. *J Hosp Infect*. 2017;97(4):363–70.
 43. Escandon P, Chow NA, Caceres DH, Gade L. Molecular epidemiology of *Candida auris*

- in Colombia reveals a highly-related, country- wide colonization with regional patterns in Amphotericin B resistance. *Oxford Univ Press Infect Dis Soc Am*. 2018;1–29.
44. Piedrahita CT, Cadnum JL, Jencson AL, Shaikh AA, Ghannoum MA, Donskey CJ. Environmental Surfaces in Healthcare Facilities are a Potential Source for Transmission of *Candida auris* and Other *Candida* Species. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2017;38(9):1107–9.
 45. Sardi J, Silvade Cássia Orlandi DR, Soares Mendes-Giannini MJ, Rosalen PL. *Candida auris*: Epidemiology, risk factors, virulence, resistance, and therapeutic options. *Microb Pathog*. 2018;125:116–21.
 46. Leroy G, Lambiotte F, Thévenin D, Lemaire C, Parmentier E, Devos P, et al. Evaluation of “*Candida* score” in critically ill patients: a prospective, multicenter, observational, cohort study. *Ann Intensive Care*. 2011;1(50):1–7.
 47. Rudramurthy SM, Chakrabarti A, Paul RA, Sood P, Kaur H, Capoor MR, et al. *Candida auris* candidaemia in Indian ICUs: Analysis of risk factors. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(6):1794–801.
 48. Vallabhaneni S, Kallen A, Tsay S, Chow N, Welsh R, Kerins J, et al. Investigation of the First Seven Reported Cases of *Candida auris*, a Globally Emerging Invasive, Multidrug-Resistant Fungus—United States, May 2013–August 2016. *Am J Transplant*. 2017;17(1):296–9.
 49. CDC. Identification of *Candida auris*. Available from: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/recommendations.html>. 2019.
 50. Mizusawa M, Miller H, Green R, Lee R, Durante M, Perkins R, et al. Can Multidrug-Resistant *Candida auris* Be Reliably Identified in Clinical Microbiology Laboratories ? *J Clin Microbiol*. 2017;55(2):638–40.
 51. Arauz AB, Caceres DH, Armstrong PA. Isolation of *Candida auris* from nine patients in Central America: Importance of accurate diagnosis and susceptibility testing. *Mycoses*. 2018;61(1):42–9.
 52. Wattal C, Oberoi JK, Goel N, Raveendran R, Khanna S. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for rapid identification of micro-organisms in the routine clinical microbiology laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(5):807–12.
 53. Bao JR, Master RN, Azad KN, Schwab DA. Rapid, Accurate Identification of *Candida auris* by Using a Novel Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Database (Library). *J Clin Microbiol*.

- 2018;56(4):1–3.
54. Fraser M, Brown Z, Houldsworth M, Borman AM, Johnson EM. Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-ToF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. *Med Mycol*. 2015;1–9.
 55. Mahmoudi S, Agha Kuchak Afshari S, Aghaei Gharehbolagh S, Mirhendi H, Makimura K. Methods for identification of *Candida auris*, the yeast of global public health concern: A review. *J Mycol Med*. 2019;29(2):174–9.
 56. CDC. Treatment and management of Infections and Colonization. Available from: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-treatment.html>. 2019.
 57. Tsay S, Kallen A, Jackson BR, Chiller TM, Vallabhaneni S. Approach to the Investigation and Management of Patients with *Candida auris*, an Emerging Multidrug-Resistant Yeast. *Clin Infect Dis*. 2018;66(2):306–11.
 58. Arendrup MC, Patterson TF. Multidrug-resistant candida: Epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. *J Infect Dis*. 2017;216(S3):S445–51.
 59. Kordalewska M, Perlin DS. Identification of drug resistant *Candida auris*. *Front Microbiol*. 2019;10:1–25.
 60. CDC. Antifungal Susceptibility Testing and Interpretation. Available from: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html>. 2019.
 61. Onishi J, Meinz M, Thompson J, Curotto J, Dreikorn S, Rosenbach M, et al. Discovery of novel antifungal (1,3)- β -D-glucan synthase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(2):368–77.
 62. Ruiz-Gaitán A, Martínez H, Moret AM, Calabuig E, Tacias M, Alastruey-Izquierdo A, et al. Detection and treatment of *Candida auris* in an outbreak situation: risk factors for developing colonization and candidemia by this new species in critically ill patients. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019;17(4):295–305.
 63. Khan Z, Ahmad S. *Candida auris* : An emerging multidrug-resistant pathogen of global significance. *Curr Med Res Pract*. 2017;7(6):240–8.
 64. Anderson TM, Clay MC, Cioffi AG, Diaz KA, Hisao GS, Tuttle MD, et al. Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. *Nat Chem Biol*. 2014;10(5):400–6.
 65. Perlin DS, Rautemaa-Richardson R, Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(12):383–92.

66. Chowdhary A, Prakash A, Sharma C, Kordalewska M, Kumar A, Sarma S, et al. A multicentre study of antifungal susceptibility patterns among 350 *Candida auris* isolates (2009-17) in India: Role of the ERG11 and FKS1 genes in azole and echinocandin resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(4):891–9.
67. Fakhim H, Chowdhary A, Prakash A, Vaezi A, Dannaoui E. In Vitro Interactions of Echinocandins with Triazoles against Multidrug- Resistant *Candida auris* Hamed. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(11):1–5.
68. Sears D, Schwartz BS. *Candida auris*: An emerging multidrug-resistant pathogen. *Int J Infect Dis.* 2017;63:95–8.
69. Shetty N, Johnson E, Patel B, Lamagni T, Muller-Pebody B, Neely F. Guidance for the laboratory investigation, management and infection prevention and control for cases of *Candida auris*. Public Health England. 2017.
70. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2015;62(4):e1–50.
71. Rhodes J, Abdolrasouli A, Farrer RA, Cuomo CA, Aanensen DM, Armstrong-James D, et al. Genomic epidemiology of the UK outbreak of the emerging human fungal pathogen *Candida auris* article. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1).
72. Garcia-Effron G, Park S, Perlin DS. Correlating echinocandin MIC and kinetic inhibition of *fks1* mutant glucan synthases for *Candida albicans*: Implications for interpretive breakpoints. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(1):112–22.
73. Cowen LE, Sanglard D, Howard SJ, Rogers PD, Perlin DS. Mechanisms of antifungal drug resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(7):1–22.
74. Ben-Ami R, Berman J, Novikov A, Bash E, Shachor-Meyouhas Y, Zakin S, et al. Multidrug-resistant *Candida haemulonii* and *C. Auris*, tel aviv, Israel. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(2):195–203.
75. Cadnum JL, Shaikh AA, Piedrahita CT, Sankar T, Jencson AL, Larkin EL, et al. Effectiveness of disinfectants against *Candida auris* and other *Candida* species. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017;38(10):1240–3.
76. CDC. Infection Prevention and Control for *Candida auris*. Available from: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-infection-control.html>. 2019.
77. Berkow EL, Angulo D, Lockhart SR. In vitro activity of a novel glucan synthase inhibitor, SCY-078, against clinical isolates of *Candida auris*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(7).

78. CIDRAP. Novel antifungal shows early promise against *Candida auris*. Available from: www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2019/04/novel-antifungal-shows-early-promise-against-candida-auris. 2019.